

계배 대뇌의 분화에 미치는 수은의 영향

김생곤 · 조광필 · 김정상*

조선대학교 치과대학 동물학교실, *동신대학교 한의학과

HgCl₂의 투여량에 따른 8일 계배의 대뇌 신경세포 분화에 미치는 영향을 규명하기 위하여 신경세포의 미세구조 변화를 전자현미경을 이용하여 관찰하였으며, 또한 탈수소효소의 활성도 및 ATP의 변화 상을 분석한 결과는 다음과 같다. 대뇌 신경세포의 미세구조의 변화는 0.1mg과 0.5mg 투여군에서는 핵막이 약간 불규칙하게 관찰되지만 조면소포체와 Golgi복합체가 발달되고 mitochondria가 다수 관찰되었다. 그러나 1.0mg 투여군에서는 조면소포체와 Golgi복합체의 발달이 미약하였으며, 2.0mg 투여군에서는 핵막이 파괴되고 2중막이 분리되었으며, Golgi복합체의 발달이 매우 미약하였다.

탈수소효소 활성도는 수은의 투여량이 증가할수록 감소하는 현상을 보였는데 LDH의 활성도는 1.0mg투여군이 약간 감소하였고, 2.0mg 투여군에서는 69%로 크게 감소 현상을 보였다. MDH활성도는 2.0mg투여군에서 82%로 활성이 감소하는 것으로 나타났다. 한편, SDH활성도는 1.0mg투여군에서 80%, 2.0mg투여군에서는 65%로 활성이 크게 감소하였다. ATP의 변화는 1.0mg투여군 이하에서는 정상군과 유의한 변화는 없으나 2.0mg투여군에서는 크게 증가하는 것으로 나타났다.

KEY WORDS: Mercuric chloride, Chick embryo cerebrum, Ultrastructural changes

수은은 옛부터 농업 분야뿐만 아니라 공업 분야에서도 광범위하게 이용되어 왔다. 그러나 1953년에서 1960년에 걸쳐 일본 미나마타시에서 사지의 마비증, 난청, 언어 장애 등을 호소하는 환자가 발생하였는데 그 오염 경로를 역학적으로 조사한 결과 아세트알데하이드를 합성하는 화학 공장에서 촉매제로 사용되는 무기수은으로부터 상당량의 methyl수은이 생성되어 공장에서 내보내는 폐수와 함께 유출된 것이 이들 질환 유발의 원인으로 밝혀졌다 (Richardson and Murphy, 1974; Moller and Danscher, 1986). 농업 분야에서는 1972년 이라크에서 곡류의 종자 소독제로 사용된 methyl수은이 많은 사망자를 발생시켰다 (Reuhl and Chang, 1979; Schardein, 1985). 그리고 공업 분야에서는 제련수은기, 건전지, 수은등, 스위치 제조, 화학합성공업 촉매제, 치과 재료, 의약품 등에 널리 이용되고 있으며 연간 10,000 톤 이상의 수은이 환경으로 배

출되고 그 대부분이 폐수로 유출되고 있다. 또한 원유, 석유등에 함유되어 있는 수은이 연소에 의해서 매년 수 천 톤 이상이 대기 중에 배출되어 환경 오염원이 되고 있다 (Park and Cha, 1984; Rhee *et al.*, 1985).

최근에는 수은에 의한 amino acid 수송과 단백질 합성의 억제효과 (Brookes and Kristt, 1989), 수은의 투여량과 방법에 따른 중추신경에 축적되는 수은의 분포 (Moller-Madsen, 1990; Moller-Madsen and Danscher, 1991), 수은의 독성 작용으로 인한 뇌의 발생에서 신경 성장 요인의 변화 (Larkfors *et al.*, 1991), amino acid 운반자에 의하여 blood-brain barrier를 통하여 수송되는 수은의 수송 기작 (Kerper *et al.*, 1992) 등에 대한 연구가 보고되었다. 무기수은은 쥐의 정상세포 내에서 이온화되어 Na⁺, K⁺-ATPase 활성 및 hexokinase 활성에 영향을 줌으로써 선택적으로 glutamate의 수송을 억제하고 (Clarkson,

1986; Brookes, 1988a; Brookes and Kristt, 1989), 중추신경계의 기능장애와 신경변성을 일으킨다(Olney, 1979; Schwarcz and Meldrum, 1985). 뇌에서 무기수은의 축적과 분포에 대한 연구는 여러 연구자에 의해서 수행되어 왔다(Chang, 1977; Moller-Madsen and Danscher, 1986).

한편 계배 대뇌의 신경세포에 대한 연구는 신경 전달 물질인 Serotonin의 영향(Emanuelsson, 1976; Choe *et al.*, 1989), 유기화합물인 malathion의 영향(Procter *et al.*, 1976; Kim *et al.*, 1988), L-tryphophan의 영향(Palen and Thomerby, 1981; Choe *et al.*, 1985; Choe *et al.*, 1989)에 대한 연구 보고가 있으나 수은에 의한 대뇌의 영향에 관한 연구는 미미한 상태이다.

따라서 본 연구는 수은의 축적 농도가 계배의 발생에 따른 대뇌의 신경세포에 미치는 영향을 밝히기 위하여 대뇌의 조직 및 세포의 분화 과정을 전자현미경으로 관찰하고 LDH, MDH 및 SDH의 효소활성도와 ATP함량 변화를 측정, 비교하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

정상 사료로 사육한 Abor acres계(전남 나주군 노안면 지산 부화장에서 분양)의 수정란(60±5g)을 부란기 내에서 최적 조건(온도 38±0.5°C, 상대 습도 60%)으로 부란하였다. 투여 약품은 mercuric chloride(HgCl₂, 藥理化學, Co., 日本)를 사용하였다.

2. 실험방법

1) Mercuric chloride의 투여

실험군은 수정란을 24시간 동안 발생시킨 후 체중 kg당 0.1mg, 0.5mg, 1.0mg, 2.0mg의 HgCl₂를 0.9% 생리적 식염수 0.05ml에 희석하여 각각 난각을 통하여 배반 부위에 1회 투여하였고 대조군으로서는 정상군과 0.9% 생리식

염수 0.05ml을 동일한 방법으로 투여한 개체들을 사용하였다. 난각에 생긴 구멍은 paraffin으로 봉한 후 부란 8일(stage 34, Hamburger and Hamilton, 1951)째까지 부란시켰다.

2) 전자현미경 관찰

계배를 적출하여 대뇌를 분리하고 1mm³으로 세절한 후 0.1M cacodylate buffer(pH 7.4)로 조정된 2.5% glutaraldehyde에서 5시간 전고정하고, 동일한 완충액으로 15분씩 3회 세척한 다음, 동일한 완충액 내의 1% osmium tetroxide(OsO₄) 용액으로 2시간 동안 후고정하였다. 고정된 조직을 동일한 완충액으로 15분씩 3회 세척한 다음 alcohol 상순 농도 순으로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후, Epon 포매제로 포매하고, 초박편기(ultramicrotome LKB-V형)를 사용하여 1μm 두께로 절편 제작한 다음 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰 대상 부위를 확인하였다. 확인한 부위를 60nm의 초박절편으로 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEM 100CX-II 투과형 전자현미경(80KV)으로 관찰하였다.

3) 효소 활성도 측정

가. Lactate dehydrogenase(LDH)의 활성도 측정

LDH의 활성은 Holbrook 등(1975)의 방법을 이용하여 반응액에 효소원을 가한 후 1분동안 감소되는 NADH의 양을 340nm에서의 흡광도를 측정하여 감소되는 NADH의 양으로부터 환산하여 측정하였다. 반응액(3ml)의 조성은 50mM phosphate buffer(pH 7.4), 0.6mM sodium pyruvate, 21.3mM nicotinamide, 0.18mM NADH로 하고 효소원으로는 추출된 조효소액 0.1ml을 혼합하여 효소활성도를 측정하였다.

나. Malate dehydrogenase(MDH)의 활성도 측정

MDH의 활성은 Joo와 Han(1976)의 방법을 이용하여 반응액에 효소원을 가하고 상온에서 1

분동안에 감소되는 2,6-dichlorophenol indophenol (DICPIP)의 양을 spectrophotometer(Shimadzu-1201)를 이용하여 600nm에서 측정하여 환산하였다. 반응액의 조성은 14mM phosphate buffer(pH 7.4), 0.43mM NAD⁺, 30mM nicotinamide, 0.86mM KCN, 0.034mM DICPIP, 7.1mM sodium malate로 하고, 여기에 추출된 조효소액 0.1ml을 혼합하여 사용하였다.

다. Succinate dehydrogenase(SDH)의 활성도 측정

SDH의 활성은 Joo와 Han(1976)의 방법을 이용하여 반응액에 효소원을 가하고 상온에서 1분동안 환원되는 DICPIP의 양을 spectrophotometer(Shimadzu-1201)를 이용하여 600nm에서의 흡광도 변화로써 활성을 측정하였다. 반응액의 조성은 50mM phosphate buffer(pH 7.6), 1mM KCN, 0.04mM DICPIP, 20mM sodium succinate로 하고, 추출된 조효소액 0.1ml을 혼합하여 사용하였다.

4) Adenosine triphosphate(ATP)함량 측정

계배대뇌에서 추출된 시료액 200 μ l와 HEPES 완충용액(50m mol Tris acetate buffer, pH 7.75, 1.5m mol EDTA, 0.075% bovine serum albumin, 10mM Magnesium acetate) 200 μ l를 혼합하고(Wulff, 1983) 여기에 HEPES 완충용액으로 용해시킨 D-luciferin-luciferase(from Firefly: Calbiochem Co.)용액 100 μ l를 혼합한 10초 후에 발광된 광도를 luminometer(Berthold, LB9501)를 이용하여 측정하였다(Bowie, 1978). 표준곡선은 1.97×10^{-5} mol ATP 용액을 HEPES 완충용액으로 희석하여 시료액과 동일하게 측정하였다.

결과

1. 전자현미경적 소견

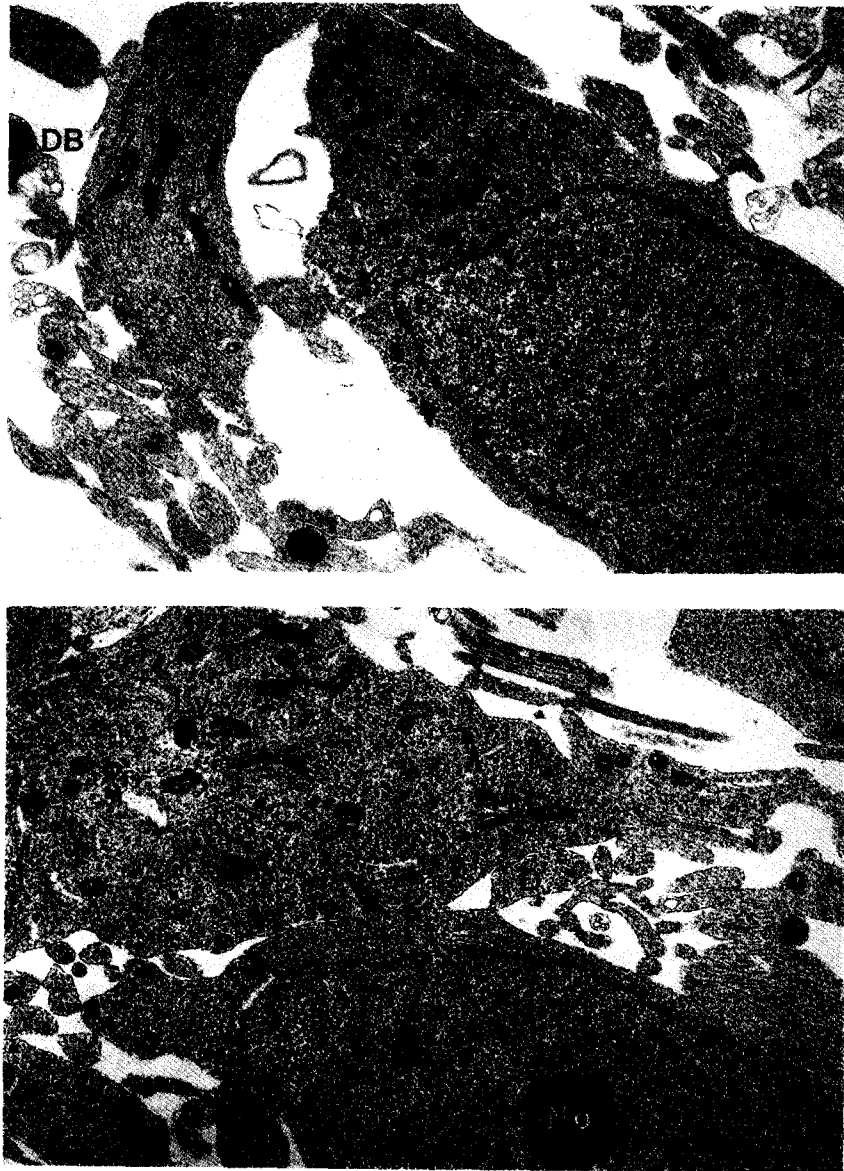
8일군 계배(Figs. 1~6)의 정상군은 염색질이

고르게 분포되어 있었으며 핵과 핵막은 뚜렷하게 나타났다. 세포질에서는 조면소포체와 Golgi복합체가 잘 발달되어 있었고 중심립도 전형적으로 관찰되었다. 또한 난원형, 세장형의 mitochondria가 잘 발달되어 있었고 신경세관과 축삭도 관찰되었다. 신경세관의 주변에서는 synaptic소포들이 집적되어 있었다(Fig. 1). 생리식염수 투여군은 핵의 염색질이 정상군과 비슷하게 분포해 있었으며 핵과 핵막은 아주 뚜렷했고 인은 핵질의 거의 중앙에 위치해 있었다. 조면소포체와 mitochondria 및 Golgi복합체는 비교적 발달이 좋았고 lysosome이 정상적으로 관찰되었다(Fig. 2). 0.1mg 투여군의 핵은 핵막이 비교적 불규칙하나 이중막이 뚜렷하였고 중앙에 커다란 인과 염색질이 관찰되었으며 핵질은 비교적 고르게 나타났다. 조면소포체와 Golgi복합체가 발달되었고 mitochondria의 cristae도 비교적 뚜렷하였으나 정상군에 비해 수가 증가되었다(Fig. 3). 0.5mg 투여군의 핵은 핵막이 약간 불규칙하며 핵질에서는 2개의 뚜렷한 인이 나타났다. Golgi복합체는 발달되었으나 mitochondria의 cristae 발달은 미약하였다(Fig. 4). 1.0mg의 투여군은 핵질과 핵질내에 있는 염색질은 비교적 고르게 분포되어 있었으며 세포질 내에 있는 mitochondria의 cristae와 Golgi복합체는 매우 미약하게 발달하였다(Fig. 5). 2.0mg 투여군은 핵질 내의 염색질이 농축되었고 핵막의 일부는 파괴되었으며 내막과 외막이 분리되었다. 조면소포체와 Golgi복합체의 발달은 아주 미약하였고, mitochondria의 cristae가 거의 관찰되지 않았다(Fig. 6).

2. 효소활성도의 변화

1) LDH의 활성도

8일군의 LDH 활성에서는 정상군과 비교하여 saline 투여군, 0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군, 1.0mg 투여군이 각각 99%, 99%, 97%, 91%로 나타나 정상군과 거의 비슷하였지만 2.0mg 투여군에서는 69%로 활성이 크게 감소되었다.



Figs. 1~6. Electron micrographs of chick embryo incubated for 8 days.

Fig. 1. Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of normal chick embryo. Neuron contains an oval-shaped nucleus (N). The cisternae of Golgi complex (G) are well developed and a number of neurotubules (Nt) are observed in the axon. C, centriole; DB, dense body. × 12,000.

Fig. 2. Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of saline-injected chick embryo. Neuron contains an oval-shaped nucleus (N) with a prominent nucleolus (No). A number of mitochondria (M) and Golgi complexes are observed. Ly, lysosomes; D, dendrite. × 12,000.

2) MDH의 활성화도

8일군의 MDH 활성화에 있어서는 saline 투여

군, 0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군, 1.0mg 투여군이 각각 95%, 96%, 93%, 93%로 다소 감소되었고, 2.0mg 투여군에서는 82%로 활성화



Fig. 3. Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of mercuric chloride-injected (0.1 mg/kg) chick embryo. Neuron contains a nucleus (N) with two prominent nucleoli. A number of mitochondria and polysomes (P) are observed. G, Golgi complex; Nt, neurotubules; RER, rough endoplasmic reticulum. $\times 13,000$.

Fig. 4. Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of mercuric chloride-injected (0.5 mg/kg) chick embryo. Golgi complex (G)/ vesicles, rough endoplasmic reticulum (RER) and polysomes are observed. Neuron contains a nucleus (N) with two prominent nucleoli. A, axon; No, nucleolus. $\times 13,000$.

감소를 가져왔다(Table 2).

3) SDH의 활성도

8일군의 SDH 활성에서는 saline 투여군,

0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군은 95%, 97%, 92%로 정상군에 비해 약간 감소되었고, 1.0mg 투여군에서는 80%로 감소되었으며, 2.0mg 투여군에서는 65%로 SDH 활성이 크게 감소되었

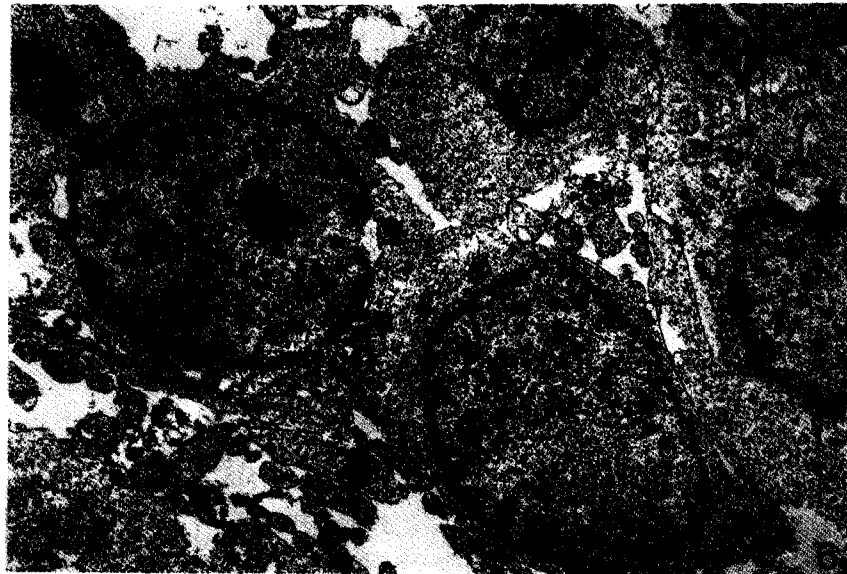
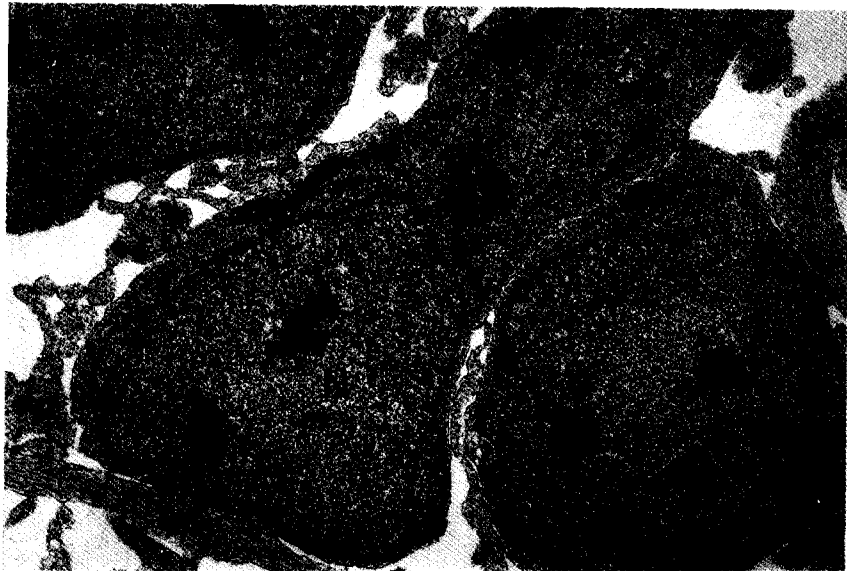


Fig. 5. Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of mercuric chloride-injected (1.0 mg/kg) chick embryo. A number of mitochondria with undistinctive cristae are observed. N, nucleus; RER, rough endoplasmic reticulum. D, dendrite. $\times 12,000$.

Fig. 6. Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of mercuric chloride-injected (2.0 mg/kg) chick embryo. The outer nuclear envelope is detached (arrows). N, nucleus. $\times 12,000$.

다(Table 3).

3. ATP의 변화

8일군의 ATP양은 정상군이 3.95×10^{-6}

mol/ml로 나타났고 saline 투여군, 0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군에서는 각각 5.40×10^{-6} mol/ml, 5.16×10^{-6} mol/ml, 5.44×10^{-6} mol/ml로 정상군과 비슷하였으나 1.0mg 투여

Table 1. Effects of HgCl₂ on LDH activity of the cerebrum in chick embryo

Incubation days	Groups	Enzyme activity* (unit/cerebrum)	Relative activity**(%)
8	control	9.28	100
	saline	9.20	99
	0.1mg/kg	9.17	99
	0.5mg/kg	8.97	97
	1.0mg/kg	8.42	91
	2.0mg/kg	6.41	69

* One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

** Relative activities were expressed as percent of control.

Table 2. Effects of HgCl₂ on MDH activity of the cerebrum in chick embryo

Incubation days	Groups	Enzyme activity* (unit/cerebrum)	Relative activity**(%)
8	control	10.10	100
	saline	9.65	95
	0.1mg/kg	9.72	96
	0.5mg/kg	9.39	93
	1.0mg/kg	9.35	93
	2.0mg/kg	8.29	82

* One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

** Relative activities were expressed as percent of control.

Table 3. Effects of HgCl₂ on SDH activity of the cerebrum in chick embryo

Incubation days	Groups	Enzyme activity* (unit/cerebrum)	Relative activity**(%)
8	control	7.14	100
	saline	6.75	95
	0.1mg/kg	6.90	97
	0.5mg/kg	6.55	92
	1.0mg/kg	5.72	80
	2.0mg/kg	4.65	65

* One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

** Relative activities were expressed as percent of control.

군에서는 1.32×10^{-5} mol/ml로 다소 증가하였고, 2.0mg 투여군은 5.35×10^{-5} mol/ml로 크게 증가 현상을 보였다(Table 4).

고찰

무기수은은 소독제, 이노제, 항균제, 안정제 및 피부연고제 등 약품의 첨가제로 사용되고 있으나(Kim et al., 1991), 그 일부가 생체 내에서 필연적으로 methyl화되고 있으므로 사람과 동식물에 미치는 영향은 다른 수은 화합물과 더불어 중요한 의미를 가지고 있다.

Kim 등(1988)은 malathion을 투여한 초기 계배 대뇌 발생에 대한 보고에서 malathion이 대뇌 신경세포의 분화를 억제하여 핵의 불규칙상, 핵막 2중층의 분리, ribosome의 감소 및 소포체 팽창에 의한 액포형성과 같은 특징을 나타낸다고 보고하였고, Choe 등(1986)은 L-tryptophan을 투여한 초기 계배의 뇌 형성에서 5-10일간 부란하여 대뇌피질세포를 관찰하였던 바, 핵막이 불규칙하고 팽출되었으며 핵 응축 현상이 심하고 염색질이 핵막에 응집되어 있었으며 인이 심하게 분해되었다고 보고하였다. 또한 세포질에서는 액포가 많이 형성되었고 확장된 Golgi복합체가 많으며 조면소포체가 확장되고 파괴된 것들도 있었으나 lysosome은 드물게 나타났다고 보고하였다.

Geelen 등(1990)에 의하면 임신 18일의 흰쥐 정맥에 methyl수은 10mg/kg을 투여하였을 때 2시간 경과군에서는 미세구조적 변화가 배자의

뇌피세포에서 처음 비정상적으로 관찰되었는데 mitochondria는 팽윤되었고 cristae가 거의 사라졌으며, 뇌피세포의 영향은 인접세포 사이에서도 변화를 가져온다고 보고하였다. Brookes와 Kristt(1989)에 의하면 쥐 대뇌의 성장세포내에서 1μM HgCl₂ 투여시 미세구조의 변화는 heterochromatin의 분리, lysosome의 증가와 세포 표면의 불규칙성의 증가를 가져왔고, 5μM을 투여하였을 때에는 많은 세포들이 확장되었고 단백질 합성과 수송에 관여하는 소기관들의 파괴가 수반되었으며 신경세포의 세포질에서 lysosome들이 특징적으로 나타난다고 하였다.

본 연구에서의 미세구조적 변화는 0.5mg 이하 투여군에서 정상군에 비해 미세하게 관찰되었지만 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. 그러나 1.0mg의 투여군에서는 핵 내의 염색질이 비교적 고르게 분포되어 있었으나 세포질 내의 조면소포체와 Golgi복합체의 발달이 매우 미약하고, mitochondria의 수적 감소가 현저하였다. 따라서 1.0mg 투여군에서는 모든 경과군에서 많은 세포 내 소기관들의 변화가 관찰되는 것으로 보아 수은이 상당한 영향을 미치는 것으로 생각된다. 한편 2.0mg에서는 핵막의 일부가 내막과 외막으로 분리되었고 인의 발달이 미약하게 관찰되었으며 mitochondria의 cristae가 거의 관찰되지 않았다. 따라서 2.0mg을 투여한 모든 군에서 핵막은 이중막의 분리 및 파괴 현상이 나타나고 세포질 내에서 세포소기관인 mitochondria의 파괴와 조면소포체, Golgi복합체의 미발달이 두드러지게 나타났다. 특히 mitochondria의 수적 감소와 cristae의 미발달로 세포 내 탈수소효소인 SDH, MDH 활성 등의 감소를 가져와 기초대사를 저해하는 것으로 생각되며 또한 이러한 세포 내의 미세구조의 변화는 수은 독성이 대뇌세포의 분화와 형태 형성에 많은 영향을 미치기 때문인 것으로 생각된다.

Asztalos와 Nemcsok(1985)는 중금속과 살충제를 투여하면 약물의 독성에 대한 방어 기전으로 대뇌 조직 및 혈액 내에서 LDH활성이 증가되었다고 하였다. 반면 Choe 등(1985)은 phenylalanine, tryptophan, tyrosine과 같

Table 4. Effects of HgCl₂ on ATP contents of the cerebrum in chick embryo

Incubation Days	Groups	ATP mol/ml
8	control	3.95×10^{-6}
	saline	5.40×10^{-6}
	0.1mg/kg	5.16×10^{-6}
	0.5mg/kg	5.44×10^{-6}
	1.0mg/kg	1.32×10^{-5}
	2.0mg/kg	5.35×10^{-5}

은 방향족 아미노산을 투여하고 15일간 부란한 계배의 경우 LDH, MDH 그리고 SDH와 같은 기초대사에 중요한 효소들의 활성도가 크게 감소된다고 보고하였다.

한편, 본 연구에서는 LDH, MDH 그리고 SDH 활성도는 수은의 투여량이 증가할수록 감소되어 후자의 소견과 거의 일치하였는데 LDH 활성의 경우 투여량의 증가에 따라 그 활성이 점차 감소하다가 2.0mg 투여군(정상군의 69%)에서는 크게 감소되었고, MDH 활성 또한 투여량에 따라서 그 활성이 감소되었는데 2.0mg 투여군에서 큰 감소율을 나타냈고, SDH 활성도는 1.0mg 투여군과 2.0mg 투여군이 크게 감소되었는데(Table 3), 이것은 HgCl₂의 축적에 따라 대뇌 세포에 손상이 일어나 탄수화물, 지질, 아미노산 등의 최종 생물학적 산화 회로인 TCA 회로의 효소활성이 저해되기 때문인 것으로 생각된다.

수은이 쥐 뇌의 microsome에서 Mg-의존성 ATPase 활성을 억제하며 oligomycin-insensitive Mg⁺⁺-ATPase에 비해 oligomycin-sensitive Mg⁺⁺-ATPase가 수은 독성에 의해 더 큰 영향을 받는다고 하였고(Chetty *et al.*, 1990), Magour등(1987)에 의하면 수은은 쥐 뇌의 microsomal Na⁺, K⁺-ATPase의 활성을 저해하고 ATP를 비경쟁적으로 억제하며 세포 내의 세포질 면에 존재하는 Na⁺, K⁺-ATPase도 저해하는 것으로 알려졌다(Anner and Moosmayer, 1992). 또한 쥐 성상세포 내에서는 수은 이온의 결합으로 인해 Na⁺, K⁺-ATPase 활성이 영향을 받음도 보고되었다(Brookes, 1988b). Hechtenberg and Beyersmann(1991)은 중금속이 토끼 근소포체의 Ca⁺⁺-ATPase의 활성을 저해함으로써 ATP의 가수분해를 억제한다고 하였다.

본 연구에서는 ATP함량이 0.5mg 투여군 이하에서는 정상군과 거의 비슷하였으나 1.0mg 이상 투여군에서는 투여량의 증가에 비례하여 증가하는 것으로 나타났다. 이것은 mitochondria 내의 탈수소효소에 비해 ATP 가수분해효소가 수은 독성에 보다 더 큰 영향을 받기 때문에 나

타나는 현상으로써, 즉 이미 생성된 ATP가 수은 독성에 의하여 그 활성이 억제된 ATP 분해 효소들의 작용을 받지 않아 분해되지 못하고 세포질 내에 축적되기 때문인 것으로 생각된다.

인용문헌

- Anner, B.M. and M. Moosmayer, 1992. Mercury inhibits Na-K-ATPase primarily at the cytoplasmic side. *Am. J. Physiol.* **262(5)**: 843-848.
- Asztalos, B. and J. Nemcsok. 1985. Effect of pesticides on the LDH activity and isoenzyme pattern of carp(*Cyprinus carpio* L.) sera. *Comp. Biochem. Physiol.* **82**: 217-219.
- Bowie, L.J., 1978. In methods in enzymology, Academic press. New York. **57**: 26.
- Brookes, N., 1988a. Specificity and reversibility of the inhibition by HgCl₂ of glutamate transport in astrocyte cultures. *J. Neurochem.* **50**: 1117-1122.
- Brookes, N., 1988b. The relative sensitivity of amino acid transport systems in astrocytes to inhibition by HgCl₂. *J. Faseb.* **2**: 1820.
- Brookes, N. and D.A. Kristt, 1989. Inhibition of amino acid transport and protein synthesis by HgCl₂ and methylmercury in astrocytes: selectivity and reversibility. *J. Neurochem.* **53**: 1228-1237.
- Chang, L.W., 1977. Neurotoxic effects of mercury-a review. *Environ. Res.* **14**: 329-373.
- Chetty, C.S., V. McBride, S. Sands and B. Rajanna, 1990. Effects in vitro of mercury on rat brain Mg⁽⁺⁺⁾-ATPase. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **98**: 261-267.
- Choe, R.S., C.N. Joo, C.K. Choi and J.W. Kim, 1985. Cell biological studies of the effect of aromatic amino acid on early development of chick embryo. *Korean J. Zool.* **28**: 257-273.
- Choe, R.S., C.N. Joo, C.K. Choi, J.W. Kim and S.O. Joo, 1986. Cell biological studies on brain formation at the early stage of chick embryogenesis. *Korean J. Zool.* **29**: 215-233.
- Choe, R.S., S.O. Joo, C.N. Joo, O.S. Oh and K.S. Shin, 1989. Cell biological study on factors affecting brain formation at early chick embryo (1)The effect of serotonin. *Korean J. Zool.* **32**: 55-73.
- Clarkson, T.W., 1986. Effects-general principles underlying the toxic action of metals, in Handbook on the Toxicology of Metals. (Friberg L., Nordberg G.F., and Vouk.V., eds), Elsevier, Amsterdam. 2nd ed. pp. 128-148.
- Emanuelsson, H., 1976. Serotonin in chick embryo cells

- during early morphogenesis. *J. Cell Biol.* **70**: 131.
- Geelen, J.A., J.A. Dormans and A. Verhoef, 1990. The early effects of methylmercury on the developing rat brain. *Acta Neuropathol.* **80**: 432-438.
- Hamburger, V. and H.L. Hamilton, 1951. A series on normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morph.* **88**: 49-92.
- Hechtenberg, S. and D. Beyersmann, 1991. Inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca⁽²⁺⁾-ATPase activity by cadmium, lead and mercury. *Enzyme.* **45**: 109-115.
- Holbrook, J.J., A. Liljas, S.J. Steindel and M.G. Rossmann, 1975. Lactate dehydrogenase. In "The Enzyme (Vol. XI), (Boyer, P.D. ed.)". Academic Press Inc., Publishers, NY. pp. 191-292.
- Joo, C.N. and J.H. Han, 1976. The effect of ginseng saponins on chicken's hepatic mitochondrial succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase and α -ketoglutarate dehydrogenase. *Korean Biochem. J.* **9**: 43-51.
- Keper, L.E., N. Ballatori and T.W. Clarkson, 1992. Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *Am. J. Physiol.* **262(5)**: 761-765.
- Kim, D.E., K.B. Song and J.H. Sung, 1991. The evaluation of mercury accumulation released from amalgam restoration in human body. *J. Kyungpook Dentistry College.* **8**: 1-17.
- Kim, W.J., Y.K. Deung and R.S. Choe, 1988. Effects of malathion on the development of the chick embryo cerebrum. *Korean J. Zool.* **31**: 191-206.
- Larkfors, L., A. Oskarsson, J. Sundberg and T. Ebendal, 1991. Methylmercury induced alterations in the nerve growth factor level in the developing brain. *Brain Res. Dev. brain Res.* **62**: 287-291.
- Magour, S., H. Maser and H. Greim, 1987. The effect of mercury chloride and methyl mercury on brain microsomal Na⁺-K⁺-ATPase after partial delipidation with Lubrol. *Pharmacol. Toxicol.* **60**: 184-186.
- Moller-Madsen, B., 1990. Localization of mercury in CNS of the rat. II. Intraperitoneal injection of methylmercuric chloride and mercuric chloride. *Toxicology & applied Pharmacology* **103**: 303-323.
- Moller-Madsen, B. and G. Danscher, 1986. Localization of mercury in CNS of the rat. 1. Mercuric chloride(HgCl₂) per os. *Environmental Research* **41**: 29-43.
- Moller-Madsen, B. and G. Danscher, 1991. Localization of mercury in CNS of the rat. *Toxicology & applied Pharmacology* **108**: 457-473.
- Olney, J.W., 1979. Excitotoxic amino acids and Huntington's disease, in *Advances in Neurology* (Chase T.N., Wexler N.S., and Barbeau A., eds), Raven Press, N.Y. **23**: 609-624.
- Palen, K. and L. Thomerby, 1981. Effects of L-phenylalanine on somite formation in the early chick embryos. *J. Embryol. Exp. Morph.* **161**: 175-190.
- Park, J.S. and C.W. Cha, 1984. A study on the effect of garlic on the toxicity of phenyl mercuric acetate in rats. *J. Korea Medical College* **21**: 49-55.
- Procter, N.H., A.D. Moscioni and J.E. Casida, 1976. Chicken embryo NAD levels lowered by teratogenic organophosphorus and methylcarbamate insecticides. *Biochem. Pharmacol.* **25**: 757-762.
- Reuhl, K.R., and L.W. Chang, 1979. Effects of methylmercury on the development of the nervous system: a review. *Neurotoxicol.* **1**: 21-55.
- Rhee, M.G., C.W. Cha and E.S. Bae, 1985. A study on the chronological changes of rat tissues and the effect of garlic in acute methyl mercury poisoning. *J. Catholic Medical College* **22**: 153-159.
- Richardson, R.J. and S.D. Murphy, 1974. Neurotoxicity produced by intracranial administration of methyl mercury in rat. *Toxicol. Appl. Pharma.* **29**: 289.
- Schardein, J.L., 1985. Chemically induced birth defects. Marcel Dekker, N.Y. 618-644.
- Schwarcz, R. and B. Meldrum, 1985. Excitatory aminoacid antagonists provide a therapeutic approach to neurological disorders. *Lancet* **2**: 140-143.
- Wulff, K., 1983. In *methods of enzymatic analysis*, 3 ed. Verlag Chemi. Weinheim. **1**: 351-355.

(Accepted June 24, 1994)

Effects of Mercuric Chloride on the Differentiation of Cerebrum of Chick Embryo

Kim, Saeng Gon, Kwang Phil Cho, Jeong Sang Kim* (Dept. of Zoology, College of Dentistry, Chosun University, Kwangju, 501-759, Korea. *Dept. of Oriental Medicine, Dongshin University, Chonnam, Naju, 590-180, Korea)

To investigate the effects of mercuric chloride (HgCl_2) on the differentiation of the cerebral neuron of chick embryo 8 days, the ultrastructural changes in nerve cells injected with a various doses of mercuric chloride were observed with transmission electron microscope. The enzyme activity of the some dehydrogenases, and adenosine triphosphate (ATP) were also analyzed. The results obtained are as follows; The nuclear envelope were irregular slightly, the ultrastructural changes in 0.1 and 0.5 mg-injected group, RER and Golgi complex were well developed. 1.0mg-injected group, the nuclear envelope were irregular, the RER and Golgi complexes were not well developed. In 2.0mg-injected group, the nuclear envelope were partly destroyed or detached, and mitochondria were decreased in number and their cristae were destroyed, too. The RER and Golgi complex were less developed than those of the normal groups. In general, the activities of dehydrogenases were declined by increasing the dose of mercuric chloride. Lactate dehydrogenase (LDH) activity failed slightly of the normal group in 1.0mg-injected group, and to 69% in 2.0mg-injected group. Malate dehydrogenase (MDH) activity was decreased greatly to 82% in 2.0mg-injected group. Succinate dehydrogenase (SDH) activity failed to 80% in 1.0 mg-injected group, and 65% in 2.0 mg-injected group. ATP content in 1.0mg-injected group was almost near to the normal level, but it was increased significantly in 2.0mg-injected group.